第8卷 第2期 动物学研究 Vol.8, No.2
1987年5月 ZOOLOGICAL RESEARCH May, 1987

茅舍血厉螨核型及染色体的C带、G带的研究

陈春生[1) 孟阳春[2)

（苏州医学院寄生虫学教研室）

摘 要

本文首次报道了一种革螨——茅舍血厉螨核型及染色体C带、G带的研究。用剖腹取卵法、玻璃纸压片、Giemsa染色，经分析茅舍血厉螨的核型，单倍体n＝7，二倍体2n＝14。

用氢氧化钡—吉姆萨技术显示茅舍血厉螨染色体C带。在第1、2、4、5染色体上出现恒定的C带部分，第3、6、7染色体上出现不恒定的C带部分。根据C带带型，茅舍血厉螨着丝点的位置可分为近中区域（sm），近端区域（st），末端区域（t）和末端点（T）四类。

G带分析用胰蛋白酶—吉姆萨技术显示。

本文对茅舍血厉螨的核型、革螨染色体研究中螨卵的收集方法和染液的改进、C带带型与着丝粒位置的确定和G带显带问题进行了讨论。

关键词 茅舍血厉螨 核型 C带染色体 G带染色体

革螨种类多、分布广，会叮人吸血，传播疾病，并且危害家禽和蜂类，影响动物饲养事业，另外还会污染仓储食品及药品。有的革螨也可作生物防治用，用以防治某些害螨。关于革螨染色体的研究，国外现已报道了9科78种，国内仅报道过1种（周洪福等，1982）。对革螨染色体的研究过去主要是用常规染色分析一般形态和数目，这对革螨的分类、性比和孤雌生殖等方面的了解起到一定的作用，但常规染色对许多问题的阐明还存在很大的限制。

应用显带技术研究革螨染色体，对革螨的分类、进化、生态、性比机理、孤雌生殖类型的研究，对害螨的遗传防治和益螨的遗传改良都有重要的实际意义。

* 本研究为研究生论文的一部分，承周洪福、蓝明扬、周志园、诸葛洪祥协助，并承钱惠平协助摄影，谨致谢意。1）研究生 2）指导导师

本文1985年4月1日收到，1985年11月18日收到修改稿。

螨类中的茅舍血厉螨的染色体结构迄今尚未见报道。近年来我们进行了这一研究，包括核型分析，并利用C带和G带技术初步研究了茅舍血厉螨的染色体带型。

材料和方法

（一）螨卵 从江苏省武进县农田鼠巢内采集革螨，以人工巢穴法进行大量饲养并以湿试管法作小量培养（MЭH，1963；孟阳春，1964）。由于茅舍血厉螨以产第一期若虫为主，有时产幼虫，产卵则极少（MЭH，1959；孟阳春，1964），本研究特以湿试管法进行养育，每隔一天投入用玻璃纸涂布的鼠血喂养，3－5天后在双目解剖镜下，用解剖针挑开雌螨腹面，挤出螨卵。本研究共做了505只螨卵标本，全部采用剖腹取卵法。

（二）染色体标本制备 采用螨卵胚细胞玻璃纸压片法（周洪福等，1983）Giemsa染色。压片标本制成后，加滴0.45%枸橼酸钠低渗10—15分钟。用冰醋酸加甲醇（1:3）混合液固定30分钟。1:10 Giemsa染液（pH7.4磷酸缓冲液）染色40分钟。

（三）C分带 据Sumner（1972）方法而略加改进。先将上述压片标本浸入预热到65°C的5%$Ba(OH)_2$水溶液中10分钟，水洗后转置于预热到65°C的2×SSC中保温1小时。水洗后用1:10 Giemsa染液（pH 7.0）染色1小时。

（四）G分带 选用Seabright（1971）方法稍加修改。将片龄为2天一1周的玻璃纸压片标本先置于65°C恒温箱中烘烤4—8小时，再放入37°C的0.125%胰蛋白酶溶液（Hanks液配制，pH7.0—7.2）中浸泡15—30秒钟，继以自来水冲洗后，再以1：20 Giemsa染液（pH7.0）染色15—20分钟。

上述染色体常规染色标本和显带标本，染色后水洗、晾干，将盖片盖在玻璃纸上作临时标本立即镜检或用中性胶封片作永久标本。

核型分析选取分散好的细胞进行染色体计数，拍照放大，测量分析。C带、G带带型的确定是在所观察的100个分裂相中有5个以上分裂相中均显现为准，并从中选取一个比较有代表性的分裂相拍照放大，制成带型图。

结　果

（一）染色体核型分析 观察了染色体分散较好的胚细胞116个；但染色体数目有一定变化，其中含有7个染色体的单倍体细胞占70.58%，含有14个染色体的二倍体细胞占70.8%（表1）。

上列结果表明茅舍血厉螨的核型有单倍体、二倍体两种，未受精卵胚细胞的核型为单倍体(haploidy)，有7个染色体，$n=7$；受精卵胚细胞的核型为二倍体(diploidy)，$2n=14$。

测量20个胚细胞中期分裂相的单倍体长度，取得1－7号染色体的平均长度分别为5.8、4.8、4.5、3.8、3.1、2.9、2.4微米。染色体形态呈腊肠型，有的弯曲呈“L”型或“U”型（图1－3）。用常规染色未见到明显的着丝点（见图1）。

表1　茅舍血厉螨染色体数目的分布频率

Table 1 The frequency of the chromosomal number of *H. casalis*

单倍体 haploidy	染色体数目 Chromrome	3	5	6	7	8	9	总计 Total
	频次 Frequency	1	4	7	48	5	3	68
	百分率（%）Percentage	1.47	5.9	10.3	70.58	7.35	4.4	100
二倍体 diploidy	染色体数目 chromosome	10	11	12	13	14	15	总计 Total
	频次 Frequency	2	5	5	2	34	0	48
	百分率（%）Percentage	4.2	10.4	10.4	4.2	70.8	0	100

（二）C带分析

表2　茅舍血厉螨染色体C带带型分析

Table 2 C-banding pattern of the chromosomes in *H. casalis*

染色体编号 No. of chromosome	C带大小 C-band size	C带位置 C-band position
1	中等大小	靠近中间区域
2	较　大	靠近中间区域
3	中　等	末端部位
4	中　等	靠近末端部位
5	较　小	末端部位
6	较　大	靠近末端区域
7	中　等	靠近中间区域

在C带染色的分裂相中，恒定出现深染C带的部分如下：第1染色体和第2染色体靠近中间的部位，第4染色体靠近末端的部位，第5染色体的末端点部位（图3）。不恒定的出现C带的部分有如下部位：第3染色体末端点部位，第6染色体靠近末端的部位，第7染色体靠近中间部位。

过去革螨染色体用常规染色方法通常不能确定着丝粒的位置，现在根据茅舍血厉螨染色体C带的初步分析，其着丝点位置按Levan（1964）的划分标准，大概可分成四类：近中区域（sm）臂比为1.7—3.0，有第1、第2和第7染色体；近端区域（st），臂比为3.0—7.0，有第4染色体；末端区域（t），臂比为7.0—∞；有第6染色体；末端点（T），臂比为∞，有第3、第5染色体。

（三）G带分析

表3 茅舍血厉螨染色体的G带带型分析

Table 3 G-banding pattern of the chromosome in *H. casalis*

染色体编号 No. of chromosome	着丝点区 Centric region	臂上带数（D深带，L浅带） No. of bands revealed in the arm (D-Dark, L-Light)	
1		5—10D	5—10L
2		4—6D	4—6L
3	全部显带	4—5D	4—5L
4	all dark	3—5D	3—5L
5		4—5D	4—5L
6		3—4D	3—4L
7		2—4D	2—4L

从表3和图4可见在7个染色体的C带的着丝点区部位，G带都显示有一深带。G带的深带显示为深染的斑块状带纹。在染色体臂上显示的带数，最多为10条深带，最少为2条深带。

讨 论

（一）茅舍血厉螨核型以及螨卵的收集与染液的改进 本文首次报道了茅舍血厉螨染色体数目、形态和大小。从核型研究看，可能为产雄孤雌生殖类型。过去一般认为革螨无特殊分化的性染色体，通过本研究表明：子代的性别决定于染色体的组成，雌螨由受精卵发育而来，雄螨由未受精卵发育而来。

目前医学上重要的血厉螨属（*Haemolaelaps*）的染色体研究报道极少，可能由于该属有的产幼虫而不产虫卵，因而染色体实验材料来源困难。此乃影响工作进行的因素之一。作者为此采用剖腹取卵法以获取虫卵，这就为非卵生性的革螨染色体研究解决了材料来源问题。

过去制备革螨染色体标本主要用地衣红（Orcein）染色压片，本文作者则以Giemsa染液染色，操作简便，染色清晰，可以制备临时或永久标本。

（二）C带与着丝粒位置的确定问题 已知C带中深染的部分是结构性异染色质。用常规染色通常因不能确定革螨染色体着丝粒位置，限制了革螨的核型分析和从细胞遗传学上对革螨分类进行鉴定。本文根据C带显带，初步分析了茅舍血厉螨的着丝点位置，大概可分为四类，即近中区域（sm）着丝粒，近端区域（st）着丝粒，末端区域（t）着丝粒和末端点（T）着丝粒。

（三）关于茅舍血厉螨的G带显带问题 关于染色体G带的研究，施立明（1984）提到，无脊椎动物的G带在目前还未能或很困难得到满意的结果。研究微小的革螨染色体，进行G带带型研究具有一定的难度。我们先后用热处理G显带法和胰蛋白酶G显带法，用不同的试剂浓度和处理时间反复试验，结果观察到在用0.125%胰蛋白酶消化15—30秒钟的染色体臂上显现出斑块状的G带带纹，经多次对比试验，所显示的带型均较

一致。另外，通过对不同发育时期的胚卵进行观察，见到比中期染色体长几倍、带纹更为丰富的晚前期和早中期G带染色体（见图4）。我们在革螨染色体G带研究上只是作了初步的摸索，正如有关学者所提出，解决显示G带技术的努力目标之一是进一步提高分辨率或者说对带纹的数目和清晰度，对比度，最终达到多线染色体的水平；二是发展一种适用于多种类型生物染色体的分带技术（施立明，1984）。

革螨染色体的显带分析对于革螨细胞遗传学，分子遗传学方面的深入研究有着广阔的前景，本文仅属一初步结果，在研究上还有待进一步深入。

参 考 文 献

孟阳春 1964 小村血厉螨 *Haemolaelaps casalis* (Parasitiformes, Gamasoidea) 生活史的实验研究。昆虫学报13（3）:436～443

孟阳春 1980 革螨的生物学和防灭。苏州医学院科研资料（33）:121～129

孟阳春 1983 革螨生物学、与人类关系和防制的研究进展。国内外医学进展第1集 江苏省医学情报研究所编56～68

周洪福、孟阳春 1982 两种革螨染色体的研究。动物学研究3（4）:478

周洪福、孟阳春 1985 革螨的细胞遗传。遗传7（1）:43～45

周洪福、孟阳春、蓝明扬 1983 蜱螨染色体改良制片法～玻璃纸压片法。遗传5（5）:45

施立明 1984 染色体分带技术的回顾与展望。动物学研究5（1）增刊1～13

Bahr, G. F., Larsen, P. M. 1974 Structural "bands" in human chromosome. *Adv. cell* Mol. *Biol.*, 3:191—212

de Jong, J. H., Lobbes, P. V., Bolland, H. R. 1981 Karyotype and sex determination in two species of laelapid mites (Acari: Gamasida). *Genetica* 55:187—190

King, M. 1980 C-banding studies on Australian Hylid Trogs: Secondary constriction structure and the concept of euchromatin transformation. *Chromosoma* (Berl.) 80:191-217

Levan, A., Fredga, K., Sandberg, A. A. 1964 Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52:201—220

Oliver, J. H., JR. 1971 Parthenogenesis in mites and ticks (Arachnida:Acari). *AM. Zoologist*, 11:283—299.

Oliver, J. H., JR. 1977 Cytogenetics of mites and ticks. *Ann. Rev. Entomol*, 22:407—429

Oliver, J.H., JR. 1983 Chromosomes, genetic variance and reproductive strategies among mites and ticks. *Bulletin of the Entomological Society of America* 29 (2):8—17

Sanchen, O. and J. J. Yunis, 1977 In "New chromosomal syndromes" (J. J. Yunis ed.) Academic Press, New York, 24

Sandberg, A. A. 1980 The chromosomes in human cancer and leukemia. Elsevier New York. Amsterdam, 98—117

Schwarzacher, H. G. and Wolf, U. 1974 Methods in human cytogenetics. Springer-Verlag Berlin. Heidelberg. New York 95—116.

Seabright, M. 1971 A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* 2:971—972

Skovby, F., 1975 Nomenclature 1975 additional chromosome band *Clin. Genet.*, 7:21—28

Sumner, A. T., Evans, H. J., Buckland, R. A. 1971 New technique for distinguishing between human chromosomes. *Nature New Biol.* (*Lond.*) 232:31—32

Sumner, A.T., 1972 A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Expl Cell Res*, 75:304—306

Wysoki, M. and Bolland, H. R. 1983 Chromosome studies of phytoseiid mites (Acari:Gamasida). *Internat. J. Acarol.* 9(2):91

Yunis, J. J. 1976 High resolution of human chromosomes. *Science*, 191:1268—1270

Yunis, J. J. 1977 Molecular structure of human chromosomes. 20—25 Academic Press.

Yunis, J. J., Yasmineh, W. G. 1971 Heterochromatin, satellite DNA, and cell function. *Science* 174:1200—1209

Мэн Ян-цунь (孟阳春) 1959 К вопросу о питании клещей *Haemolaelaps casalis* (Parasitiformes, Gamasoidea) Мед. Параз. и Параз. Бол. 28(4):477—481, 28(5):603—609.

Мэн Ян-цунь (孟阳春) 1963 Материалы по биологии клеща (*Haemolaelaps casalis*) Вопросы Мед. Параз., Москва. 301—331

STUDIES ON KARYOTYPE AND C-BANDED, G-BANDED CHROMOSOMES OF *Haemolaelaps casalis*

Chen Chunsheng Meng Yangchun

(Department of Parasitology, Suzhou Medical College)

This paper first presents the studies on karyotype and C-banding, G-banding of the chromosome in *Haemolaelaps casalis*. An analysis of the karyotype of *H. casalis* was carried out on the basis of the chromosomes of eggs by cellophane squash technique, taking eggs by caesarean section, using Giemsa stain. The results show that the karyotype of *H. casalis* is haplodiploidy, i. e., haploid chromosome number is 7 (n=7), while that of diploid chromosome is 14 (2n=14).

C-banding analysis of egg cellophane squashes of *H. casalis* by barium hydroxide-Giemsa banding technique (CBG) showed that constant C-bands would appear at several positions such as No. 1, 2, 4 and 5 chromosomes, but nonconstant C-bands would do at No.3, 6 and 7 chromosomes. According to the result of C-banding pattern, of these chromosomes of *H. casalis*, No. 1, 2 and 7 were submetacentric (sm), No. 4 was subtelocentric (st), No. 6 terminal region centric (t) and No. 3 and 5 were terminal point centric (T).

The G- banded chromosomes of *H. casalis* by trypsin- Giemsa banding technique (GTG) evidenced that the position were C-bands have appeared reveal dark bands, with chromosome arms ranging from 2 to 10 dark bands.

Key words *Haemolaelaps casalis* Karyotype

C-banded chromosomes G-banded chromosomes

Fig. 1—2 The karyotype of *H. casalis*

Fig. 1 haploidy $n=7$ (male)

Fig. 2 diploidy $2n=14$ (female)

Fig. 3 C-banded chromosomes $n=7$ (male)

Fig. 4 G-banded chromosomes $n=7$ (male)